277—282　　8349(17)

动 物 学 研 究 1993, 14 (3): 277—282
Zoological Research
ISSN 0254-5853
CN 53-1040 / Q

红鲫与湘江野鲤杂交的受精细胞学研究

吴端生　　刘 筠
(长沙水利电力师范学院理科二系 410077)　　(湖南师范大学生物系 410081)

Q959.468

摘要 红鲫成熟卵直径 680—720 μm; 卵膜孔为精子入卵的唯一通道，包括前庭和精孔管两部分; 精孔管内径约 5 μm。湘江野鲤精子头部直径约 2.5 μm。在通常情况下，红鲫卵为单精受精。尽管红鲫与湘江野鲤不同属，但杂交仍具有正常的受精细胞学程序。红鲫卵子处于第二次成熟分裂中期接受湘江野鲤精子入卵，精子入卵 5 min 后，出现明显的精子星光; 15 min 后，雄性原核及雌性原核形成; 25 min 后，雌、雄性原核融合; 30 min 后，开始卵裂，发现 1 个受精卵切片上有 4 个即将融合的原核，这可能是由于双精受精所致。

关键词: 红鲫，湘江野鲤，受精细胞学

80 年代初，湖南师范大学生物系与湖南省湘阴县东湖渔场协作，用红鲫 (*Carassius auratus*) 作母本、湘江野鲤(*Cyprinus carpio*)作父本进行杂交育种，获得了具有明显杂交优势的杂种一代 (命名为湘鲫) (刘筠等, 1986)，后来又繁殖出杂种二代、三代等。经染色体检查，初步发现杂种一代是二倍体 (2n=100)，个别是三倍体 (3n=150)①，杂种三代是异源四倍体②③。为了探索鲫鲤杂交优势形成及杂种染色体加倍的原理，作者于 1989 年至 1991 年进行了红鲫卵子与湘江野鲤精子杂交的受精细胞学研究。现将这一工作整理报道于下。

材 料 与 方 法

受精卵在 18—20℃水温中经人工授精获得。从受精到受精后 5 min，每隔 2 min 取材一次，受精后 10 min 取材一次，以后每隔 5 min 取材一次，直至受精后 60 min。所取材料用 Bouin 氏液或 Smith 氏液固定，酒精脱水，二甲苯透明，石蜡包埋。切片厚 8—10 μm。 Harris 氏苏木精伊红染色。 Olypus 显微镜观察并摄影。

实 验 结 果

红鲫卵子与湘江野鲤精子受精的细胞学过程:

本文 1992 年 9 月 16 日收到，1993 年 3 月 22 日修回。

① 作者研究结果，待发表。 ② 刘必谦，1987，硕士研究生论文。 ③ 杨臻生，1991，硕士研究生论文。

1. 精子入卵与卵激动（受精后 30 s 至 3 min） 即将受精的红鲫卵直径 680—720 μm，处于第二次成熟分裂中期（图版Ⅰ：1）。湘江野鲤精子经卵膜孔进入红鲫卵（图版Ⅰ：2）。卵膜孔包括前庭和精孔管两部分。据测量，红鲫卵精孔管直径约 5 μm，湘江野鲤精子头部直径约 2.5 μm，可同时允许 2 个精子入卵，但通常只有 1 个精子入卵，为单精受精。受精后 1 min，精子已游过新月池，与卵子质膜接触，接触处隆起，形成受精锥（图版Ⅰ：3）。受精锥高、宽均约 8 μm，与 Kodu（1980）观察鲤鱼受精锥大小为高 10 μm、宽 3—4 μm 有所不同。这可能与观察时卵子所处的时间不同有关。受精锥的形成可作为卵子受精标志之一，因为由其他原因引起的激动卵没有受精锥的产生（Kobayashi 等，1987；Kodu，1986）。精子入卵后，卵即被激动，激动卵可见现象主要有：皮质小泡破裂；受精膜举起；卵质向动物极流动和完成第二次成熟分裂，排出第二极体。

2. 精子星光形成及第二极体排出（受精后 3 min 至 10 min） 受精后 3 min，受精锥消失，精子已进入卵质。如同朱洗等（1960）在金鱼卵上所描述的一样，精子头部位于一小腔中，但未见有明显的精子星光（图版Ⅰ：6）。成熟分裂图象仍处于第二次成熟分裂中期（图版Ⅰ：5）。受精后 5 min，精子深入卵质，精子星光也明显可见（图版Ⅰ：8），此时卵子第二次成熟分裂已进入后期（图版Ⅰ：9）。受精后 10 min，精子更深入卵质，星光更为发展，精子头部开始膨胀，迈向核化（图版Ⅰ：10）。此时卵子完成了第二次成熟分裂，排出第二极体（图版Ⅰ：12）。

3. 雌、雄性原核形成（受精后 10 min 至 15 min） 受精后 10 min，精子头部开始膨胀，星光发达；至受精后 15 min，雄性原核形成，星光也几乎占据整个胚盘（图版Ⅰ：11）。同时，雌核原核也形成，雌性原核周围不见有星光发出（图版Ⅱ：1）。雌、雄性原核形成后，对苏木精及伊红均不着色。原核形成时，核质去致密是从外到内进行（图版Ⅰ：10、11）。观察受精后 25 min 的 30 个受精卵，有 29 个是 2 个原核，偶尔在 1 个受精卵切片上见到 4 个原核（图版Ⅱ：5、6）。

4. 雌、雄性原核靠近及融合（受精后 15 min 至 25 min） 雌、雄性原核刚形成时相距甚远，以后均向胚盘中央迁移，两者逐渐靠近，最后融合。受精后 15 min，两性原核已形成；受精后 20 min，两性原核已靠拢，两性原核靠拢所处的位置恰好在胚盘中央的卵中轴线上（图版Ⅱ：2）。受精后 25 min，两性原核已紧密接合。接合线与卵中轴线构成 45° 角（图版Ⅱ：3）。这与朱洗等（1960）在金鱼卵上观察到的基本一致。稍后，两性原核完全融合，来自母本红鲫和父本湘江野鲤两方的核物质共同构成具有 2n 染色体的合子核。此时，星光排列在合子核的两侧，其连线与卵中轴垂直，与胚盘长轴平行（图版Ⅱ：4）。图版Ⅱ：5、6 是 4 个原核融合或即将融合的情形。明显可见其中 3 个原核已接合在一块，另 1 个原核也已靠近。这种受精卵将来发育成四倍体（4n）杂种。

5. 第 1、2 次卵裂（受精后 30 min 至 60 min） 两性原核完全融合后，随即核膜消失，进入有丝分裂—卵裂。水温 18—20℃，受精后 30 min 受精卵进入第 1 次卵裂中期（图版Ⅱ：7）。可见染色体整齐地排列在纺锤体的赤道板上，无染色体丢弃现象。受精后 40 min，第 1 次卵裂结束。卵裂沟在纺锤体赤道板位置形成（图版Ⅱ：9、10）。

进行约 10 min 的准备之后，受精卵进行第 2 次卵裂（图版Ⅱ：8）。受精后 60 min，第 2 次卵裂完成。以后，受精卵每隔约 15 min 分裂一次，为盘状卵裂。

讨　论

1. 鱼类远缘杂交受精过程易于完成的原因　国内自 70 年代以来，所进行的鱼类杂交组合达 100 个以上，而且绝大多数是远缘杂交。实践证明，远缘杂交成功率很高，有许多杂种具有明显的杂交优势。鱼类远缘杂交为什么能够成功？过去有人（Loeb 等，1912）认为，鱼类远缘杂交，异种精子仅起激活卵子的作用。也就是说，杂种是雌核发育的结果。这种观点近年被越来越多的育种事实所否认。受精细胞学研究表明（湖南师范学院生物系鱼类研究小组，1973；刘筠等，1981，1986；刘国安等，1987；刘思阳，1987），鱼类远缘杂交具有正常的受精细胞学程序，异种精子不单纯是起着激活卵子的作用，而且参与遗传物质的组成。从而证实鱼类远缘杂交可以形成杂交优势。本研究也进一步证实了这一点。

为什么鱼类远缘杂交受精过程不受亲缘关系影响而易于完成呢？其原因作者认为主要在以下三个方面：第 1，鱼类卵子具有特有的卵膜孔。卵膜孔的存在可以保证同种或异种精子入卵畅通无阻。第 2，由于鱼类所处的进化地位，卵质调控雄性原核形成和精子使成熟卵激活均没有种的特异性。两者纯属相互诱导关系。实验证明，精子进入雌核发育鱼类卵不能形成雄性原核（俞豪祥，1982；周嘉申等，1983）。说明雄性原核的形成受卵细胞的调控。Eng 等（1980）研究海胆发现卵内有一种调控雄性原核形成的物质，称为"精子核去浓缩因子"，而且这种物质没有种的特异性。有人发现鱼类卵中也有这类物质存在（Саат Т.В.等，1985），并且也没有种的特异性（丁军等，1991）。第 3，鱼类受精过程的进行不受父本基因的干扰，仅由母本基因的调控。实验证明，受精卵蛋白质合成（傅文庆，1981）、受精卵卵裂速率（刘筠等，1981；夏仕玲等，1990）等均由卵内早已存在的基因产物控制，父本基因的影响要到原肠形成时才能检出（蒋耀青等，1985）。所以，不成活的属内或属间的硬骨鱼种间杂种，是在原肠形成或更晚一些时候才停止发育。

2. 鱼类远缘杂交产生多倍体的可能机理　关于鱼类杂交产生多倍体的机理，据报道有保留第二极体、核内有丝分裂、杂交雌核发育等说法。作者认为就红鲫 × 湘江野鲤这个杂交组合来说，多倍体的产生可能是由于双精受精的缘故。其证据有：(1) 经染色体检查发现，杂种一代出现有三倍体（3n）、杂种后代为四倍体（4n）。(2) 红鲫卵精孔管内径（5 μm）可允许 2 个湘江野鲤精子（2.5 μm）进入（图Ⅰ：2）。(3) 存在有 4 个原核融合的受精卵（图Ⅱ：5、6）。至于导致红鲫双精受精原因，作者认为主要是由于精卵异质性矛盾所引起的阻止多精受精机制的失控。这可为鱼类远缘杂交容易产生多倍体的事实所佐证（Beck 等，1980；刘国安等，1987；刘思阳，1987）。尽管红鲫卵膜孔可允许 2 个湘江野鲤精子同时入卵，但由于阻止多精受精的机制存在，通常也只是单精受精。Kodu（1980）曾指出，鲤鱼卵精孔管直径可允许 2 个精子入卵，但由于受精锥的外推作用，结果进入卵内的只有 1 个精子。红鲫与湘江野鲤亲缘关系较远，必然

存在精卵异质性矛盾。其结果是这道机制的严密性易被改变了的环境因素（如温度变化）打破，2个精子得以同时人卵。

图 版 说 明

图版Ⅰ：

1. 红鲫成熟卵子部分放大，示第二次成熟分裂中期图象（×400）
2. 受精后30 s，卵膜孔及经卵膜孔入卵的精子（×600）
3. 受精后1 min，精子及受精锥（×600）
4. 受精后3 min，左边箭头示第二次成熟分裂中期图象，右边箭头示进入卵质的精子（×400）
5. 图4部分放大，示第二次成熟分裂中期图象（×600）
6. 图4部分放大，示进入卵质的精子（×600）
7. 受精后5 min，左边箭头示精子及精子星光，右边箭头示第二次成熟分裂后期图象（×400）
8. 图7部分放大，示精子及精子星光（×600）
9. 图7部分放大，示第二次成熟分裂后期图象（×600）
10. 受精后10 min，示深入卵质的精子及星光（×600）
11. 受精后10 min，形成中的雄性原核（×400）
12. 与图10同一卵子的另一切面，示第二极体即将排出（×600）

图版Ⅱ：

1. 受精后10 min，示雌性原核（×400）
2. 受精后20 min，雌、雄性原核已靠拢（×400）
3. 受精后25 min，雌、雄性原核已紧密接合（×400）
4. 受精后25 min，雌、雄性原核融合（×400）
5. 受精后25 min，示4个原核即将融合。下面3个箭头示第1、2、3个原核已接合，上面箭头示第4个原核已靠近（×400）
6. 与图5相邻切面，上面的箭头示第4个原核，下面的箭头示第1、2、3个原核（×400）
7. 受精后30 min，示第一次有丝分裂（卵裂）中期图象（×100）
8. 受精后55 min，示第二次有丝分裂（卵裂）中期图象及第一卵裂沟（×100）
9. 受精后40 min，示一子细胞核及第一卵裂沟（×100）
10. 与图9同一受精卵的另一切面，示另一子细胞核及第一卵裂沟（×100）

参 考 文 献

丁军，蒋一珪. 1991. 两种发育型鱼类卵母细胞成熟过程中促精核发育现象的研究. 水生生物学报，15（4）：289—294.

朱洗，王幽兰等. 1960. 金鱼和鳊鱼卵珠受精的细胞学研究. 实验生物学报，7（1）：29—46.

刘国安，吴维新等. 1987. 兴国红鲤同草鱼杂交的受精细胞学研究. 水产学报，11（1）：17—22.

刘思阳. 1987. 草鱼卵子和三角鲂精子杂交的受精细胞学研究. 水产学报，9（3）：225—232.

刘筠，陈淑群，王义铣. 1981. 三角鲂精子与青鱼卵子的受精细胞学研究. 水生生物学集刊，7（3）：329—336.

刘筠，周工健．1986．红鲫（♀）×湘江野鲤（♂）杂交一代生殖腺的细胞学研究．水生生物学报，10（2）：101—108．

周嘉申，沈俊宝，刘明华．1983．黑龙江一种银鲫（方正银鲫）雌核发育的细胞学初步探讨．动物学报，29（1）：11—16．

俞豪祥．1982．银鲫雌核发育的细胞学观察．水生生物学集刊，7（4）：481—487．

夏仕玲，余来宁，吴作文．1990．鱼类卵细胞质对胚胎发育速度的调控．淡水渔业，（3）：17—18．

湖南师范学院生物系鱼类研究小组．1973．鳙鱼（♀）×草鱼（♂）杂交试验的初步结果和受精细胞学的研究．淡水渔业，（6）：2—4．

傅文庆译（J. 布拉舍著）．1981．分子胚胎学引论．北京：科学出版社，88—90．

蒋耀青，黄华樑等译（E.H.戴维森著）．1985．早期发育的基因活性．北京：科学出版社，46．

Beck, M. L. *et al.* 1980. Karyological analysis of *Ctenopharynogodon idella*, *Aristichthys nobilis* and their F1 hybrid. *Iran. Amer. Fish. Soc.*, **109**: 433–438.

Eng L. A. *et al.*, 1980. Sperm head decondensation by a high molecular weight fraction of sea urchin egg homogenate. *J. Exp. Zool.*, **212**: 159–167.

Kobayashi, W. *et al.*, 1987. Light and electron microscopic observations of sperm entry in the chum salmon egg. *J. Exp. Zool.*, **243**: 311–322.

Kodu, S. 1980. Sperm penetration and the formation of a fertilization cone in the common carp egg. *Dev. Growth Diff.*, **22** (3): 403–414.

Kodu, S. 1986. Fertilizing spermatozoa of the fish, *Tribolodon hakonensis*, as revealed by electron microscopy. *Dev. Growth Diff.*, **28** (Supp.): 108.

Loeb, J. 1912. Heredity in heterogeneous hybrids. *J. Morph.*, **23**: 1–16.

Саат Т. В., Юронен Э. И. 1985. Изменения ядра спермия при оплодотворении у бисексуэльной и гиногенетической форм серебряного карася. *Онтогенез*, **16** (5): 492–496.

CYTOLOGY STUDY ON THE CROSS FERTILIZATION BETWEEN *Carassius auratus* RED VARIETY (♀) AND *Cyprinus carpio* XIANGJIANESIS (♂)

Wu Duansheng

(*Changsha Normal University of Water Resources and Electric Power* 410077)

Liu Jun

(*Hunan Normal University*)

This paper deals with the study on the cross fertilization between *Carassius auratus* red variety (♀) and *Cyprinus carpio* xiangjianesis (♂). Mature oocytes of *C. auratus* red variety have a diameter of 680—720 μm. The micropyle is contained by micropylar vestibule (MV) and canal (MC) which has a diameter of

5 μm. While the sperm has a half diameter of MC, through the micropyle only single sperm usully enters the egg, which is known as monospermic egg, *C. aurutus* red variety and *C. carpio* xiangjianesis belong different genus, even then the process of their cross fertilization are normal. The appropriate time of insemination is at the metaphase of the meiosis. By the 5 min postinsemination, conspicuous spermast is seen in the egg cytoplasm of *C.aurutus* red variety. By the 15 min postinsemination, the male and female pronuclei are formed. By the 25 min postinsemination, the male and female pronuclei are fused to form the nucleus of the zygote. By the 30 min postinsemination, segmentation begins in the zygote. The 4 pronuclei being fused are found in the section of 1 zygote. Perhaps it comes from bispermism.

Key words: *Carassius auratus* red variety, *Cyprinus carpio* xiangjianesis, Fertilization cytology

∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞ ∞

(上接第 269 页)

讨论 在土白蚁属（*Odontotermes*）白蚁的翅面存在乳突和棒状突起 2 种微刻点以及毛（Roonwal 等，1967、1980、1985）. 我们对黑翅土白蚁的观察结果与上述报道一致. Roonwal 等（1980）在光镜下观察到，在大白蚁属（*Macrotermes*）白蚁的翅面有乳突、粉刺状突起和毛。Roonwal 等（1985）在电镜下对 *M. gilvusborneensis* 的观察得到同样的结果. 我们的观察结果表明，在黄翅大白蚁的翅面，除了乳突、粉刺状突起和毛，还有数量极少的棒状突起，其中大部分为近直线形突起，形状规则，少量为浅"S"形突起。

张方耀　　李　参　　高其康*

Zhang Fangyao　　Li Shen　　Gao Qikang*

(浙江农业大学植保系　杭州　310029)

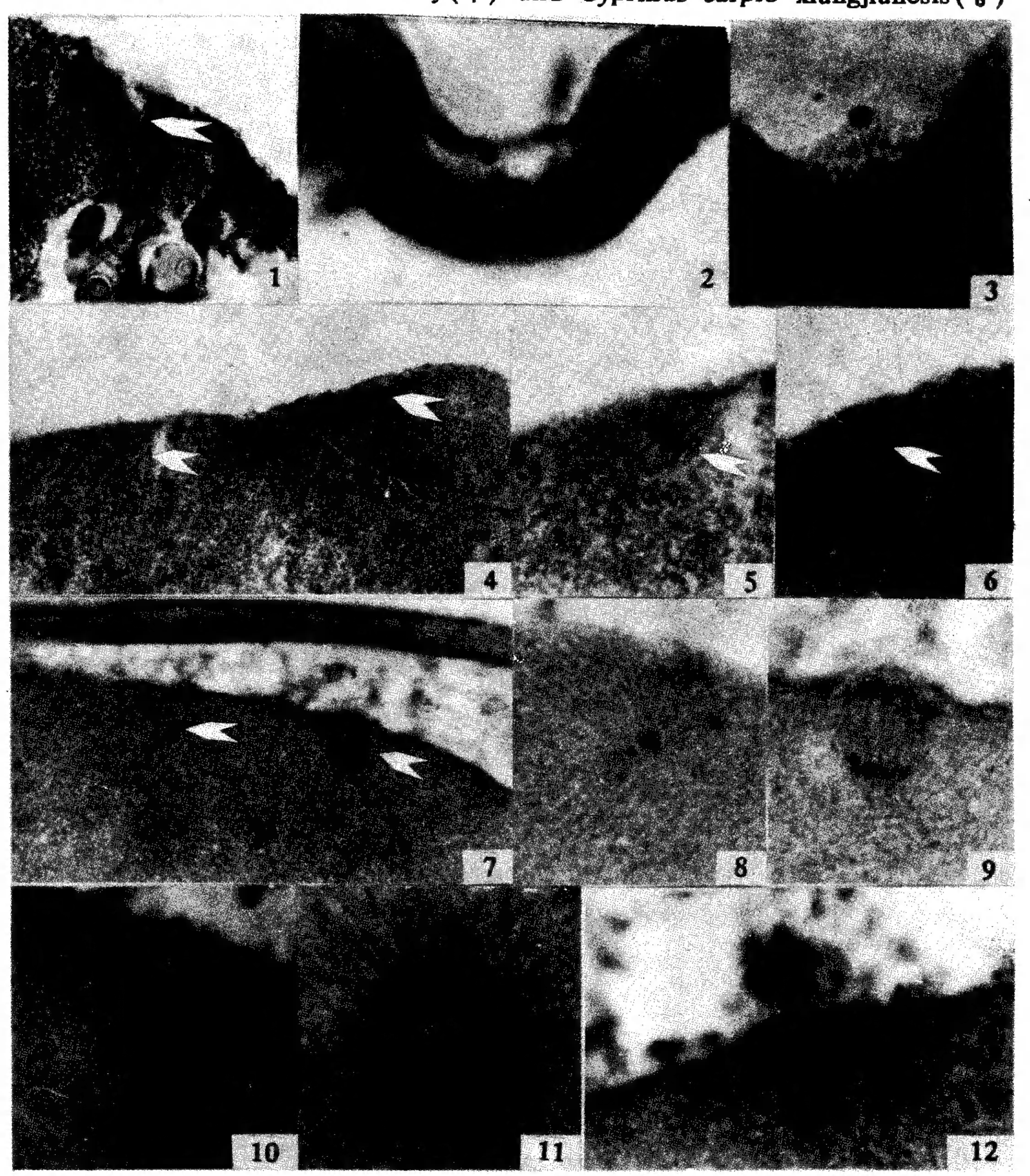
(*Department of Plant Protection, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou* 310029)

* 浙江农业大学电镜室。

* Electron Microscopy Laboratory

吴端生等：红鲫与湘江野鲤杂交的受精细胞学研究 图版 I

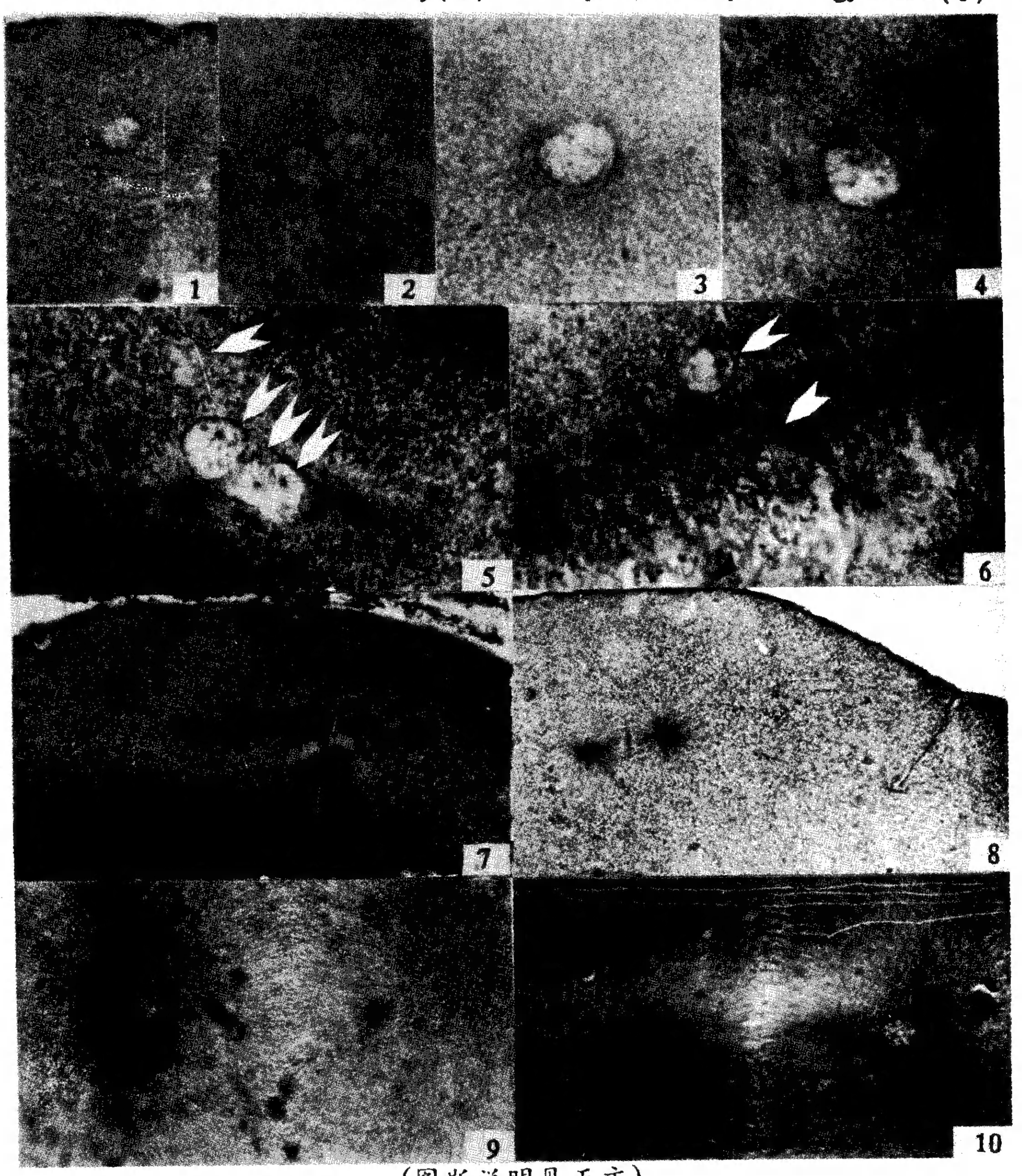
Wu Duansheng *et al.* : Cytology study on the cross fertilization between *Carassius auratus* red variety (♀) and *Cyprinus carpio* xiangjianesis (♂)



(图版说明见正文)

吴端生等：红鲫与湘江野鲤杂交的受精细胞学研究　　图版Ⅱ

Wu Duansheng *et al.* : Cytology study on the cross fertilization between *Carassius auratus* red variety(♀) and *Cyprinus carpio* xiangjianesis(♂)



（图版说明见正文）